Aus der Kinderklinik der Universität Tübingen
Ehem. Direktor: Professor Dr. med. K. Betke

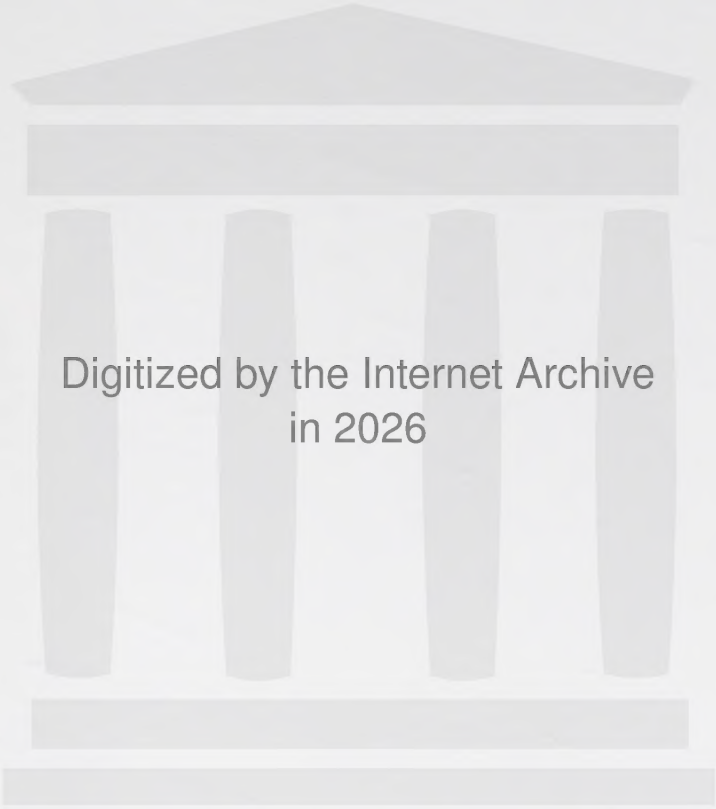
Qualitative und quantitative Analyse des Blutfarbstoffes von Schweine-, Schafs- und Rinderembryonen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Hans-Dieter Spieth
aus Esslingen a. N.

1968

9768


Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547601_0101

Aus der Kinderklinik der Universität Tübingen
Ehem. Direktor: Professor Dr. med. K. Betke

Qualitative und quantitative Analyse des Blutfarbstoffes von Schweine-, Schafs- und Rinderembryonen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Hans-Dieter Spieth
aus Esslingen a. N.

1968

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan: Prof. Dr. W. Graumann

1. Berichterstatter: Priv.Doz. Dr. E. Kleihauer (Prof. Dr. K. Betke)
2. Berichterstatter: Prof. Dr. H.D. Waller

Gesamtherstellung: FOTODRUCK PRÄZIS Barbara v. Spangenberg KG · Tübingen

INHALT

		Seite
A	EINLEITUNG	1
B	UNTERSUCHUNGSMATERIAL UND METHODEN	5
	Untersuchungsmaterial	5
	Blutgewinnung	5
	Herstellung der Hämolysate	5
	Stärkegelelektrophorese	6
	Elektrophorese auf Acetatfolien	7
C	ERGEBNISSE	8
	Qualitative und quantitative Analyse des Blutfarbstoffes von Schweineembryonen	8
	Charakterisierung und Mengenbestimmung der Hämoglobine bei Schafsembryonen	12
	Muster und quantitative Verteilung der Hämoglobine bei Rinderembryonen	15
	Motilitätsvergleich der GOWER-Hämoglobine von Mensch, Schwein, Schaf und Rind	18
D	DISKUSSION	21
E	ZUSAMMENFASSUNG	24
F	LITERATUR	27

A EINLEITUNG

Die große Bedeutung des Blutfarbstoffes im Komplex der Atemfunktion hat ihn seit langem zum Gegenstand vieler Untersuchungen gemacht. Durch die Entdeckung der Hämoglobinanomalien ist das Interesse, das man ihm zollt, noch weiter gewachsen.

Die Hämoglobintypen

In der Ontogenese des Menschen und anderer hochdifferenzierter Organismen treten verschiedene Blutfarbstofftypen auf: das adulte, das fetale und das embryonale Hämoglobin. Den differenten Blutfarbstoffen gemeinsam ist der Aufbau aus der Eiweißkomponente Globin und der prosthetischen Gruppe Häm. Das Globinmolekül besteht aus 4 Polypeptidketten, die durch salzartige Bindungen verknüpft werden. Die baulichen Eigentümlichkeiten der verschiedenen Pigmenttypen beruhen auf dem Zusammenschluß bestimmter Ketten, die durch Art und Folge der Aminosäurebausteine definiert sind und durch Buchstaben des griechischen Alphabetes bezeichnet werden.
Das adulte menschliche Hämoglobin (Hb A) besteht aus zwei Komponenten, dem Hb A_1 und der Minorkomponente Hb A_2. Das Globinmolekül des Hb A_1 baut sich aus zwei α- und zwei β-Ketten ($\alpha_2\beta_2$) auf, das des Hb A_2 aus zwei α- und zwei δ-Ketten ($\alpha_2\delta_2$). Der fetale Blutfarbstoff (Hb F) hat die Kettenformel $\alpha_2\gamma_2$. Die embryonalen Hämoglobine werden als Hb GOWER I und Hb GOWER II bezeichnet. Zum Globinanteil des Hb GOWER I schließen sich vier ε-Ketten (ε_4), das Globin des Hb GOWER II wird aus zwei α- und zwei ε-Ketten zusammengesetzt ($\alpha_2\varepsilon_2$). Die strukturellen Differenzen sind für die unterschiedlichen physikochemischen und funktionellen Eigenschaften der Farbstoffe verantwortlich.
Übersichten über die Struktur und Funktion der verschiedenen Hämoglobintypen finden sich u.a. bei BETKE (6), HUEHNS und SHOOTER (19), KLEIHAUER (20), SCHROEDER und JONES (38).

Der Gang der frühen praenatalen Hämoglobinentwicklung

Die Erythropoese des menschlichen Foeten gliedert sich in eine mesoblastische, hepatolienale und medulläre Phase (25,26). Interessant im Zusammenhang dieser Arbeit ist namentlich die erste Blutbildungsperiode. Etwa 14 Tage post conceptionem, bei einer Länge des Embryo von 0,35 bis 0,4 mm, beginnt die Bildung roter freier Zellen im Mesenchym des Dottersackes, später des Embryos selbst. Das Auftreten der Zellen dieser 1. Generation dauert bis zum Ende des 3. Schwangerschaftsmonates. In den kernhaltigen roten Zellen der mesoblastischen Periode vollzieht sich die Bildung des embryonalen Blutpigmentes. Sie erfolgt nach den Gesetzen der Eiweißsynthese an den Ribosomen der Megaloblasten. Der Aufbau der Polypeptidketten geschieht unter Genkontrolle. Zunächst werden nur ε-Ketten gebildet und damit das Hb GOWER I. Wenig später beginnt die Bildung der α-Ketten und die Produktion des Hb GOWER II. Die γ-Kettenbildung setzt bei 5 bis 6 Wochen alten Embryonen ein (24).

Historische Daten

Die Existenz des fetalen Blutfarbstoffes beim Menschen ist schon seit 100 Jahren bekannt (27). Das Auftreten eines praefetalen Hämoglobins hingegen wurde lange Zeit angezweifelt und erst in den letzten Jahren diskutiert.

Die ersten daraufzielenden Berichte stammen von DRESCHER und KÜNZER (9) aus dem Jahre 1954. Sie zeigten, daß das Blutpigment von 7 bis 12 Wochen alten Früchten bezüglich seines Verhaltens gegen Alkali zwischen Hb F und Hb A steht. Dieses Ergebnis legten sie ihrer Forderung nach einem neuen Hämoglobintyp zugrunde.

ALLISON (2) bestätigte 1955 in den Resultaten seiner genetischen Studien bei Mäuse- und menschlichen Embryonen das Auftreten eines neuen normalen primitiven Farbstoffes, Hb P.

In den Jahren darauf berichteten HALBRECHT und Mitarbeiter (12,13,14), KÜNZER (28) und ALLEN et al. (1) über jenes primitive Hämoglobin, das sie mittels der Alkalidenaturierung, der Elektrophorese oder der Chromatographie gefunden hatten.

MATSUDA et al. (32) überprüften 1960 die bislang bekannt gewordenen Ergebnisse. Sie untersuchten das Blut von 19 zwischen 7 und 30 Wochen alten Menschenfrüchten. Ihre Resultate korrespondierten weder bei der Alkalidenaturierung noch bei der Chromatographie mit denen der anderen Autoren. Sie faßten zusammen, daß keine Anhaltspunkte für die Existenz eines frühfetalen Hämoglobins vorlägen und deuteten die positiven Ergebnisse der früheren Untersucher als durch Kunstprodukte des Hb F zustandegekommen.

Im gleichen Jahre konnten BUTLER und Mitarbeiter (7) und ZILLIACUS (43) bei jungen Menschenfoeten ein Hämoglobin mit anderer elektrophoretischer Motilität in Agar bzw. auf dem Papier als die des Hb A und Hb F finden.

HUEHNS et al. (16) berichteten im Jahre darauf über zwei neue Hb-Varianten

im Pherogramm eines 3.4 cm langen Menschenembryos. Die beiden Komponenten – von den Autoren als Hb GOWER I und Hb GOWER II bezeichnet – wanderten im elektrischen Spannungsfeld langsamer als Hb C.
Die Untersuchungsergebnisse von HUEHNS und Mitarbeitern (17,18), KLEIHAUER et al. (20,21) und HECHT et al. (15) aus den Jahren 1964, 1965 und 1966 halfen dann die immer noch bestehenden Zweifel an der Existenz des praefetalen Blutpigmentes zu zerstreuen. Heute gilt es als sicher, daß embryonale Hämoglobine in der Ontogenese des Menschen als normale Blutfarbstofftypen vorkommen.

Die Suche nach dem primitiven Hämoglobin erstreckte sich in den vergangenen Jahren auch auf einige Tierarten. BARROWMAN und Mitarbeiter (3,4) starteten im Jahre 1961 Untersuchungsreihen mit verschiedenen Mäusestämmen. Sie analysierten mit Hilfe der Stärkegelelektrophorese das Hämoglobin von fetalen, neugeborenen und erwachsenen CBA- und C57BL/6-Mäusen. Die Bandmuster der Mäuseembryonen wiesen im Gegensatz zu jenen reiferer Foeten und neugeborener Vergleichsmäuse eine bzw. zwei langsam anodisch wandernde Hb-Fraktionen auf.
D'AMELIO und SALVO (8), 1961, und MANWELL et al. (30), 1963, konnten bei Embryonen von Hühnervögeln ein Hämoglobin nachweisen, das sich elektrophoretisch, strukturell und funktionell eindeutig vom Blutfarbstoff älterer Foeten und erwachsener Tiere unterschied.
Die immunologischen und elektrophoretischen Untersuchungen WILT's (38) aus dem Jahre 1962 deckten bei weniger als 36 bis 48 Stunden bebrüteten Hühnerembryonen einen von den adulten und fetalen Globinkomponenten differenten Globintyp auf.

KURATA und ARAKAWA (29) isolierten im Jahre 1963 aus dem Homogenat von 2 000 bis 3 000 befruchteten Eiern des Bufo vulgaris japonicus ein Hämolysat, in dem sie ein embryonales Hämoglobin mit schnellerer elektrophoretischer Wandergeschwindigkeit als Hb A und Hb F entdeckten.
Bei ihren 1965 und 1966 durchgeführten Studien über die Heterogenität der Rinderhämoglobine fanden KLEIHAUER et al. (22,23) bei 3.0 bis 8.0 cm langen Embryonen regelmäßig neben Hb F die beiden GOWER-Hämoglobine. Bei Früchten mit Kopfsteißlängen zwischen 1.0 und 1.5 cm kamen zum Teil drei embryonale Fraktionen zur Darstellung. Im Pherogramm eines 0.5 cm langen Rinderembryos zeigte sich außer dem embryonalen Hämoglobin keine weitere Bande.
SCHMID und THEIN (36) berichteten im vergangenen Jahre ebenfalls über das elektrophoretische Verhalten des Hämoglobins von Rinderfrüchten unterschiedlicher Entwicklungsreife. Bei Embryonen bis 1.0 cm konnten sie nur embryonales Hämoglobin finden. Im Bandmuster von 1.0 bis 2.0 cm langen Früchten zeichnete sich zusätzlich die Hb F-Fraktion ab. Embryonen über 2.0 cm Länge ließen das für embryonales Hämoglobin charakteristische Band vermissen.

Das Auftreten des embryonalen Farbstoffes bei verschiedenen Tierspezies ist heute ebenfalls unbestritten. Es erscheint als Hb GOWER I und Hb GOWER II in einer frühen Phase der Ontogenese.

Definition der Aufgabe

Die vorliegende Arbeit mag ein Beitrag zur vergleichenden Physiologie sein. An einem gut zugänglichen Material wird die erste Phase der praenatalen Hämoglobinentwicklung beleuchtet. Einmal soll bei Schweine-, Schafs- und Rinderembryonen die Praesenz des embryonalen Hämoglobins aufgedeckt, zum anderen die quantitative Verteilung dieses Farbstoffes während der Embryonalperiode verfolgt werden.

B UNTERSUCHUNGSMATERIAL UND METHODEN

Untersuchungsmaterial

In den Vieh- und Schlachthöfen von Reutlingen und Stuttgart wurden 34 Schweinefrüchte, 33 Schafsfrüchte und 18 Rinderfrüchte unterschiedlicher Reifestadien gesammelt. Die Früchte wurden den geschlachteten Tieren in utero entnommen. Bis zur Präparation wurden die Trachten bei 4°C kühl gelagert. Die Aufbereitung des Materials erfolgte in allen Fällen nicht später als 6 bis 7 Stunden nach der Schlachtung der Muttertiere.

Blutgewinnung

Die Untersuchungsobjekte wurden in den Eihäuten aus den Trageorganen freipräpariert. Das Blut der größeren Früchte wurde nach Unterbindung der Nabelschnur durch Herzpunktion mit Kanülen und Capillarpipetten gewonnen. Zum Teil wurde es zusätzlich auch aus Leberhomogenaten ausgewaschen. Kleineren Früchten (bis zwei cm Länge) wurde der Kopf vom Rumpf getrennt. Der Rumpf wurde in 1.4 %iger NaCl-Lösung zerschnitten und ausgeschüttelt. Durch ein Gazefilter und durch spontane Sedimentation ließen sich die Rumpfteile vom Blute trennen.

Herstellung der Hämolysate

Das Citratblut wurde dreimal in 1.4 %iger NaCl-Lösung gewaschen und jeweils bei 3 000 U/min 5 Minuten lang zentrifugiert. Durch Zusatz von 1 Teil aqua dest. zu 1 Teil Erythrocytensediment wurde hämolysiert. In jenen Fällen, in denen nur kleine Mengen Blut gewonnen werden konnten, wurde die Hämolyse durch wiederholtes Einfrieren bei -20°C und Auftauen ohne Zusatz von aqua dest. durchgeführt. Zur Beseitigung der Stromata und Ausschichtung wurden die Proben mit Tetrachlorkohlenstoff versetzt, 5 Minuten lang kräftig ausgeschüttelt und 10 Minuten bei 6 000 U/min zentrifugiert.

Stärkegelelektrophorese, mod. nach SMITHIES (40)

Zur Auftrennung der Hämoglobingemische in die einzelnen Komponenten wurde die Elektrophorese im Stärkegel, pH 9.0, gewählt.

a Gel

360 ml Tris-EDTA-Borat-Puffer, pH 9.0 (6.05 g Tris, 0.78 g EDTA, 0.46 g Borsäure, ad 1 000 ml aqua dest.) wurden in einer Nutsche erhitzt. In die nahezu kochende Pufferlösung wurde ein in 90 ml des gleichen Puffers aufgeschwemmtes Gemisch aus 20 g Kartoffelstärke und 48 g hydrolysierter Stärke in Portionen eingebracht. Sobald das Gel ein glasiges und homogenes Aussehen zeigte, wurde mit der Wasserstrahlpumpe in der Nutsche ein Vakuum erzeugt und so die in das Gel eingerührte Luft entfernt. Nach dem Entgasen wurde das noch heiße Gel in eine 5 mm tiefe, 135 mm breite und 275 mm lange Kammer gegossen. Die gefüllte Kammer wurde bis zum Erkalten des Gels in den Kühlschrank gebracht.

Die oberste Schicht des abgekühlten Gels wurde abgetragen und verworfen, das Gel quer zur Wanderungsrichtung durchschnitten und in der Schnittlinie um ein kleines auseinandergeschoben. 10 mal 4 mm große Streifchen aus WHATMAN-3 MM-Papier wurden im Hämolysat getränkt und zwischen Filterpapier getrocknet. Nach Einlegen der Strips in die Startlinie wurde das Gel wieder lückenlos zusammengeschoben. Während der Elektrophorese blieb das Gel mit Paraffin abgedeckt, um sein Austrocknen zu verhindern.

b Elektrophorese

Die Elektrophorese wurde als Hochspannungselektrophorese mit dem Gerät der Fa. HORMUTH, Heidelberg-Wiesloch, durchgeführt. Als Elektroden dienten Tuch-Cellophan-Membranen. In den Schalen befand sich Veronal/Veronal-Na-Puffer, pH 8.6, I 1.0 (14.2 g Veronal, 103.0 g Veronal-Na, ad 5 000 ml aqua dest.). Günstige Auftrennungsergebnisse konnten erzielt werden bei 330 v, 30-40 mA, + 12°C und einer Laufzeit von 4 bis 5 Stunden.

c Färbung

Nach dem Lauf wurde das Gel in zwei horizontale Schichtportionen aufgeteilt und 10 Minuten in 96 %igen Alkohol gelegt. Gefärbt wurde mit Amidoschwarzlösung (2.0 g Amidoschwarz, 450 ml Methanol, 50 ml Eisessig). Die Färbedauer betrug 20 Minuten. Überschüssiger Farbstoff mußte anschließend mit einer Entfärberflüssigkeit (1 Teil Eisessig, 9 Teile Methanol) wieder aus den Gelscheiben eluiert werden. Die Hämoglobinfraktionen zeichneten sich als blauschwarze Banden ab.

Auch die 10 minütige Anfärbung mit Benzidinlösung (2.0 g Benzidin, 5 ml Essigsäure, ad 1 000 ml aqua dest.) brachte gute Ergebnisse. Bei dieser Methode zeigten sich die Hämoglobinbanden grünbraun coloriert.

Elektrophorese auf Acetatfolien (CAG-Folien)

Die Mengenverteilung der einzelnen Hb-Fraktionen wurde mittels der Elektrophorese auf Acetatfolien (CELLOGEL, Chemetron, Milan, Italien) bestimmt. Im Gegensatz zu den Stärkegel-Pherogrammen lassen sich die Bandmuster auf den transparent gemachten CAG-Folien quantitativ auswerten.
Benutzt wurde eine Modifikation der Methode nach ROSENBAUM (35). Als Apparatur diente die Mikrozonen-Elektrophorese-Kammer der Fa. BECKMAN. Das Puffersystem bestand aus Tris-EDTA-Borat, pH 9.0. Die Elektrophoresedauer betrug 2 bis 2 1/2 Stunden bei 150 V.
Die quantitative Auswertung erfolgte im BECKMAN-Analytrol.

C ERGEBNISSE

Qualitative und quantitative Analyse des Blutfarbstoffes von Schweineembryonen

Untersucht wurden 34 Schweinefrüchte mit Kopf-Steißlängen zwischen 0.4 und 30.0 cm.

Die elektrophoretische Auftrennung des Hämoglobins von 0.4 und 0.9 cm langen Schweineembryonen im Stärkegel erbrachte zwei, dicht beieinander liegende Fraktionen, die nur eine kurze Strecke aus der Startlinie herausgewandert waren. Diese beiden Fraktionen entsprechen den embryonalen Hämoglobinen GOWER I und GOWER II. Ein gleiches Ergebnis fand sich auch bei einer 1.6 cm langen Re-

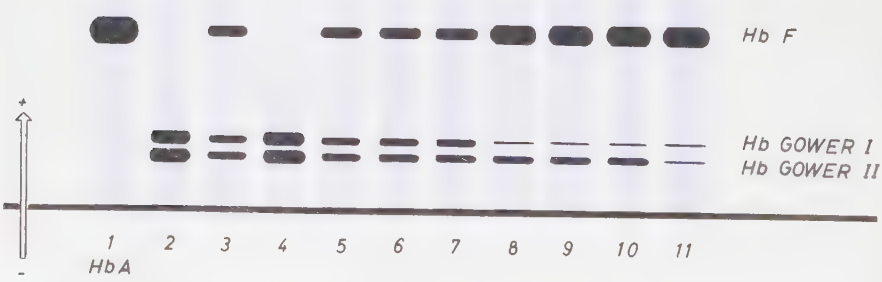


Abb. 1. Trennung der Hämoglobine von Schweineembryonen durch Stärkegelelektrophorese, pH 9.0. 1) Hämolysat eines erwachsenen Schweines, 2) Embryo 0.4 cm, 3) Embryo 1.3 cm, 4) Embryo 1.6 cm – Resorptionsfrucht, 5) Embryo 2.1/2.3 cm, 6) Embryo 2.8/3.0 cm, 7) Embryo 3.9/4.2 cm, 8) Embryo 4.5/5.2 cm, 9) Embryo 5.8/6.3 cm, 10) Embryo 6.8/7.4 cm 11) Embryo 8.0/9.0 cm.

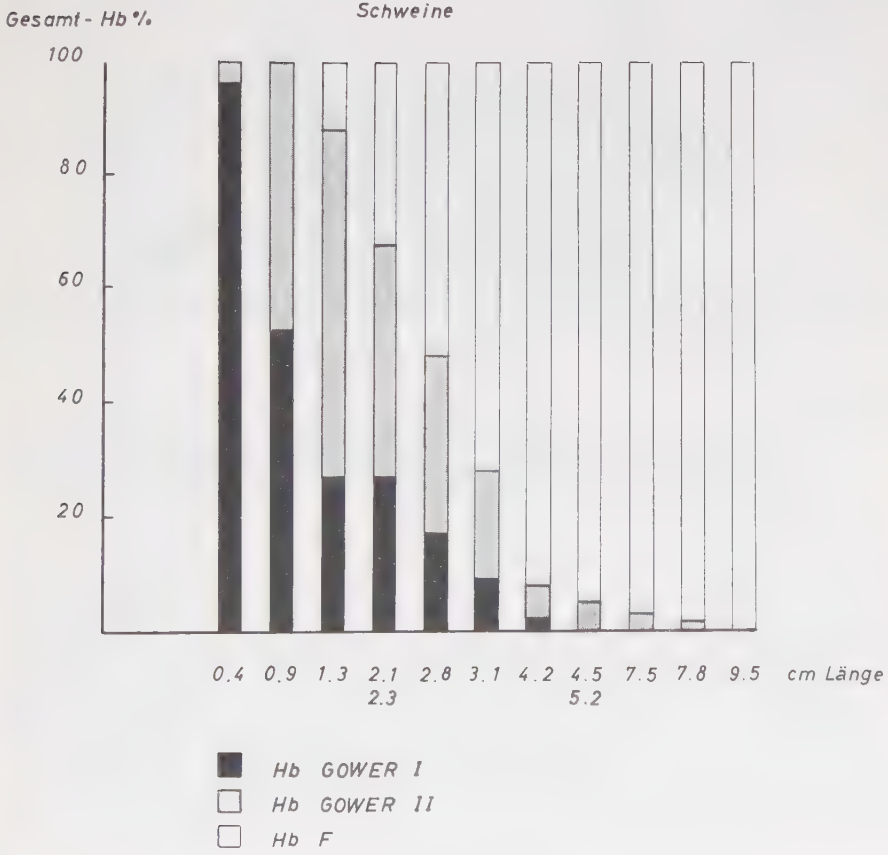
sorptionsfrucht. Bei einem 1.3 cm langen Embryo konnte zusätzlich eine dritte, schneller wandernde Fraktion, das Hb F, nachgewiesen werden. Die Aufspaltung des Hämolysates von 1.4 bis 7.8 cm großen Schweinefrüchten ergab regelmäßig ebenfalls drei Komponenten. Bei 8.0 bis 9.0 cm messenden Foeten konnte in einem Falle nur fetales Hämoglobin aufgedeckt werden, in zwei Fällen zeichneten sich noch die GOWER-Banden ab. Das Hb-Bandmuster von 9,5 bis 30.0 cm langen Foeten zeigte sich einheitlich, hier gelangte nur eine Bande mit Position des Hb F zur Darstellung.

Schon die Ergebnisse der qualitativen Methode deuteten durch die Bandenstärke der einzelnen Komponenten auf ein typisches Verhalten der Hb-Mengenverteilung während der Embryonalperiode hin. Durch die quantitative Bestimmungsmethode ließen sich diese Verhältnisse genauer eruieren.
Bei Embryonen unter 1.0 cm Länge bestand der ganze Blutfarbstoff aus praefetalem Hämoglobin. Die Konzentration des Hb GOWER I lag deutlich höher als die des Hb GOWER II. Die reiferen Embryonen besaßen bei gleichzeitiger Reduktion des absoluten Anteiles des embryonalen Hämoglobins am Gesamtfarbstoff größere Mengen des Pigmentes vom Typus GOWER II. 4.5/5.2 bis 7.8 cm lange Früchte verfügten über noch meßbare Hb GOWER II-Mengen, während Hb GOWER I allenfalls in Spuren vorhanden war. In gleichem Maße, in dem der Anteil des praefetalen Hämoglobins am Gesamt-Hb verliert, nimmt die Konzentration des Hb F zu. Bei einem 2.8 cm großen Embryo fanden sich embryonales und fetales Hämoglobin etwa zu gleichen Teilen.

SCHWEINE				
No	Kopf-Steiß-Länge in cm	% GOWER I	% GOWER II	% Hb F
1	0.4	96	4	0
2	0.9	53	47	0
3	1.3	27	61	12
4	1.4	29	44	27
5	1.6 RF	40	60	0
6	2.1 / 2.3	27	41	32
7	2.8	17	31	52
8	2.8 / 3.0	22	31	47
9	3.1	9	19	72
10	3.9 / 4.2	4	13	83
11	4.2	2	6	92
12	4.5 / 5.2	Spuren	5	95
13	5.8 / 6.3	Spuren	4	96
14	6.8 / 7.4	Spuren	6	94
15	7.5	Spuren	3	97
16	7.8	Spuren	2	98
17	8 0 / 9 0	Spuren	Spuren	100
18	8.5 / 9.0	Spuren	Spuren	100
19	9.5	0	0	100
20	11 0	0	0	100
21	12 0	0	0	100
22	12.5	0	0	100
23	13.0	0	0	100
24	13.5	0	0	100
25	14 0 / 16 0	0	0	100
26	16.0	0	0	100
27	16.0 / 18 0	0	0	100
28	21.5	0	0	100
29	24 0	0	0	100
30	25.0	0	0	100
31	25.5	0	0	100
32	26.5	0	0	100
33	27 5	0	0	100
34	30.0	0	0	100

Tab. 1. Quantitative Verteilung der einzelnen Hämoglobinkomponenten bei Schweinefrüchten verschiedener Entwicklungsreife.

Graphische Darstellung der quantitativen Verteilung der einzelnen Hb-Fraktionen bei Schweinefrüchten während der Embryonalperiode.



Charakterisierung und Mengenbestimmung der Hämoglobine bei Schafsembryonen

Zur Untersuchung gelangten 33 Früchte verschiedener Entwicklungsreife.
Bei einem 0.8 cm langen Embryo fanden sich bei der Stärkegelelektrophorese zwei langsam anodisch wandernde Fraktionen, die GOWER-Hämoglobine, und eine dritte Fraktion mit größerer Motilität, das Hb F. Ein nämliches Verteilungsmuster beobachtete man bei 1.0, 1.4, 2.4 und 3.1 cm großen Früchten. Weniger konstant waren die Ergebnisse bei 3.3 bis 4.0 cm langen Embryonen insofern, als in zwei Fällen embryonales Hämoglobin aufgedeckt werden konnte, in einem Falle jedoch nicht. Die Hb-Analyse von 4.9 bis 47.0 cm langen Foeten ergab nurmehr die schnellwandernde Hb-Fraktion.

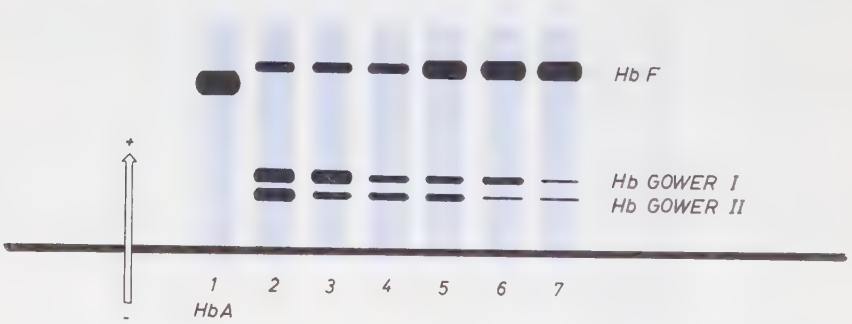


Abb.2. Elektrophoretische Darstellung der Hämoglobine von Schafsembryonen. 1) Hämolysat eines erwachsenen Schafes, 2) Embryo 0.8 cm, 3) Embryo 1.0 cm, 4) Embryo 1.4 cm, 5) Embryo 2.4 cm, 6) Embryo 3.3 cm, 7) Embryo 4.0 cm.

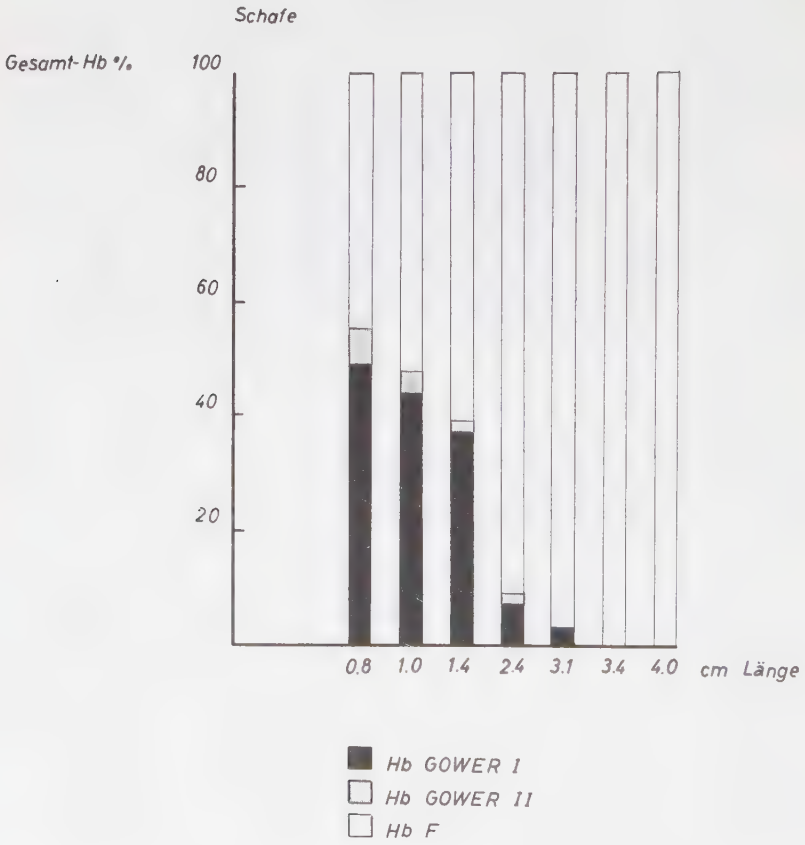
Die quantitative Analyse zeigte eine mit zunehmender Entwicklungsreife der Schafsembryonen zugunsten des Hb F schnell abnehmende Konzentration des embryonalen Hämoglobins. Schon bei dem 0.8 cm langen Embryo bestand das Gesamt-Hb nur etwa noch zur Hälfte aus praefetalem Pigment, die Portionen des Hb GOWER I und des Hb GOWER II verteilten sich wie 8:1. Eine eindeutige Dominanz des Hb GOWER I über den anderen embryonalen Farbstofftyp fand sich auch bei den Embryonen bis 3.3 cm Kopf-Steißlänge. Bei den 3.4 und 4.0 cm großen Früchten konnte der frühfetale Farbstoff nicht mehr in meßbaren Mengen nachgewiesen werden.

SCHAFE

No	Kopf-Steiß-Länge in cm	% GOWER I	% GOWER II	% Hb F
1	0.8	49	6	45
2	1.0	44	4	52
3	1.4 Zw	37	2	61
4	1.4	37	2	61
5	2.4	7	2	91
6	3.1	3	Spuren	97
7	3.3 Zw	3	Spuren	97
8	3.3	3	Spuren	97
9	3.4	0	0	100
10	4.0	Spuren	Spuren	100
11	4.9	0	0	100
12	6.0	0	0	100
13	8.0	0	0	100
14	9.0	0	0	100
15	11.0	0	0	100
16	12.0	0	0	100
17	13.0	0	0	100
18	13.5	0	0	100
19	14.5	0	0	100
20	14.6	0	0	100
21	16.0	0	0	100
22	17.0	0	0	100
23	18.0	0	0	100
24	20.5	0	0	100
25	23.0	0	0	100
26	25.5	0	0	100
27	27.0	0	0	100
28	30.0	0	0	100
29	33.0	0	0	100
30	34.0	0	0	100
31	37.0	0	0	100
32	43.0	0	0	100
33	47.0	0	0	100

Tab.2. Mengenverteilung der Hämoglobinfraktionen bei Schafsfrüchten unterschiedlicher Reifestadien.

Graphische Darstellung der Hb-Portionen bei Schafsfrüchten während der embryonalen Entwicklungsperiode.



Muster und quantitative Verteilung der Hämoglobine bei Rinderembryonen

Analysiert wurden die Blutproben von 18 zwischen 0.7 und 22.0 cm großen Rinderfrüchten.

Ein Rinderembryo von 0.7 cm Länge zeigte bei der Stärkegelelektrophorese nur die beiden langsam wandernden GOWER-Hämoglobine. Im Pherogramm eines 1.2 cm langen Embryos trat die schneller wandernde Hb F-Fraktion hinzu. Regelmäßig waren drei Fraktionen auch bei Früchten bis zu einer Kopfsteißlänge von 7.0 cm nachzuweisen. Eine 8.0 und 8.3 cm große Frucht zeigte neben der fetalen Fraktion nur noch die GOWER II-Bande. Im Pherogramm reiferer Foeten stellte sich ausschließlich Hb F dar.

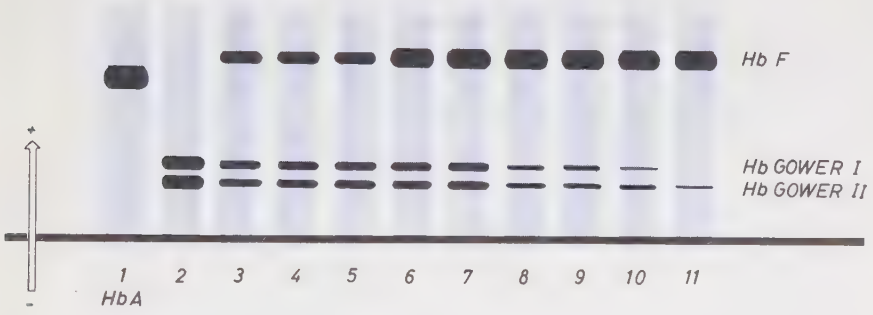


Abb. 3. Elektrophoretische Trennung der Hämoglobine von Rinderembryonen im Stärkegel, pH 9.0. 1) Hämolysat eines erwachsenen Rindes, 2) Embryo 0.7 cm, 3) Embryo 1.2 cm, 4) Embryo 3.0 cm, 5) Embryo 3.3 cm, 6) Embryo 4.2 cm, 7) Embryo 4.5 cm, 8) Embryo 5.2 cm, 9) Embryo 6.5 cm, 10) Embryo 7.0 cm, 11) Embryo 8.0 cm.

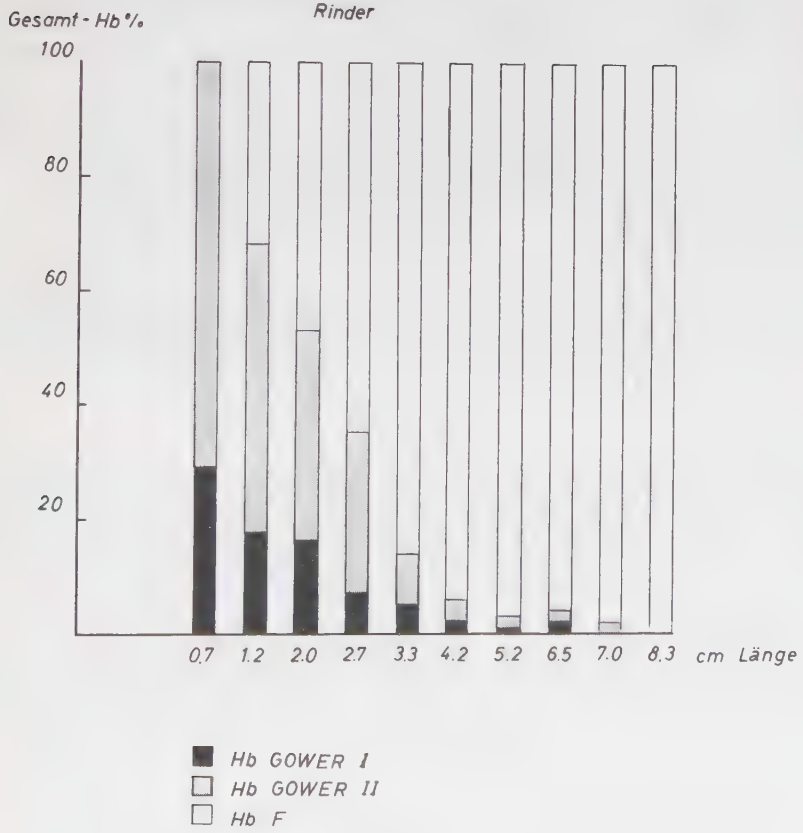
Das Hämoglobin des 0.7 cm langen Embryos bestand zu 100 % aus praefetalem Blutfarbstoff. Dabei verhielten sich Hb GOWER I und Hb GOWER II wie 1 : 2. Der Anteil des embryonalen Pigments am Gesamt-Hb verringerte sich mit fortschreitender Reife der Embryonen mehr und mehr, in gleichem Zuge wuchs die Konzentration des Hb F. In annähernd gleichen Teilen lagen das embryonale und fetale Hämoglobin bei der 2.0 cm langen Frucht vor. Hb GOWER II fand sich auch bei den übrigen untersuchten Embryonen – mit Ausnahme des 6.5 cm lan- Foeten – in größerer Menge als Hb GOWER I.

RINDER

No	Kopf Steiß Länge in cm	% GOWER I	% GOWER II	% Hb F
1	0.7	29	71	0
2	1.2	18	51	31
3	2.0	16	37	47
4	2.7	7	28	65
5	3.3	5	8	87
6	4.2	2	4	94
7	5.2	0.5	2.5	97
8	6.5	2	2	96
9	7.0	Spuren	2	98
10	8.0	0	Spuren	100
11	8.3	0	Spuren	100
12	9.5	0	0	100
13	12.0	0	0	100
14	14.0	0	0	100
15	15.0	0	0	100
16	16.0	0	0	100
17	20.0	0	0	100
18	22.0	0	0	100

Tab. 3. Prozentualer Anteil der einzelnen Hämoglobinkomponenten am samt-Hb bei verschieden alten Rinderfrüchten.

Graphische Darstellung der Hb-Mengenverteilung bei Rinderfrüchten im Laufe der Embryonalperiode.



Motilitätsvergleich der GOWER-Hämoglobine von Mensch, Schwein, Schaf und Rind

Die Motilität der GOWER-Hämoglobine beim Schwein, Schaf und Rind im Stärkegel, pH 9.0, ist dieselbe. Die menschlichen embryonalen Hämoglobine zeichnen sich indes durch eine geringere elektrophoretische Wandergeschwindigkeit aus.

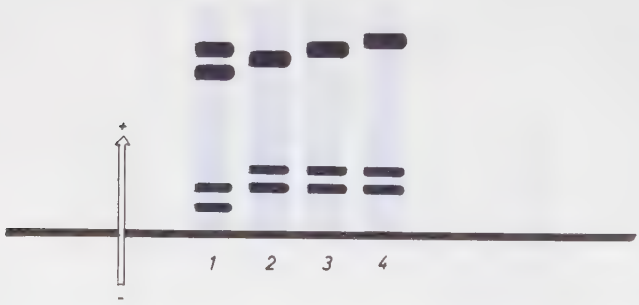


Abb.4. Vergleich der Wandergeschwindigkeit der embryonalen Hämoglobine von 1) Mensch 3.8 cm, 2) Schwein 2.8/3.0 cm, 3) Schaf 1.0 cm, 4) Rind 1.2 cm.

Randergebnisse

Das elektrophoretische Auftrennungsmuster von Hämoglobinlösungen, die durch Punktion des Herzens gewonnen wurden, zeigte sich nicht in allen Fällen identisch mit jenem der Hämolysate, die aus den Leberhomogenaten derselben Untersuchungsobjekte ausgewaschen wurden. Der Einfachheit halber seien im Folgenden die ersteren als A-, die letzteren als B-Präparationen bezeichnet.

Differenzen konnten aufgedeckt werden bei den A- und B-Hämolysaten von 17.0, 18.0 und 37.0 cm großen Schafsfoeten. Im Pherogramm der B-Proben trat eine anodisch schneller als Hb F wandernde Fraktion hinzu. Die B-Präparationen eines 12.0 und eines 13.5 cm langen Foetus zeigten nur die schneller wandernde Sonderfraktion.

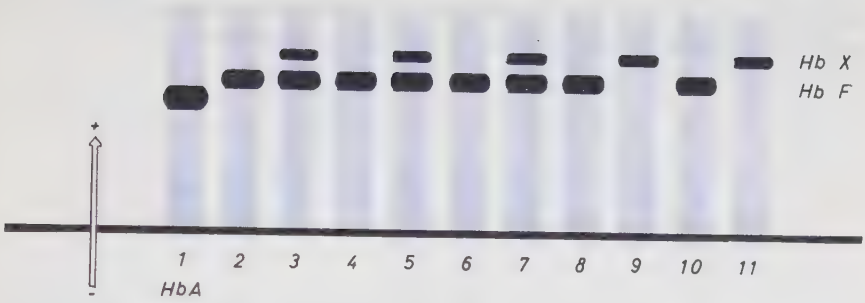


Abb.5. Musterunterschiede zwischen den A- und B-Hämolysaten von Schafsfrüchten. 1) Hämolysat eines erwachsenen Schafes, 2) Foetus 17.0 cm-A, 3) Foetus 17.0 cm-B, 4) Foetus 18.0 cm-A, 5) Foetus 18.0 cm-B, 6) Foetus 37.0 cm-A, 7) Foetus 37.0 cm-B, 8) Foetus 12.0 cm-A, 9) Foetus 12.0 cm-B, 10) Foetus 13.5 cm-A, 11) Foetus 13.5 cm -B.

Dieselben Unterschiede fanden sich zwischen den A- und B-Proben von 2.7, 3.3, 5.3 und 8.3 cm langen Rinderfrüchten.

Abb.6. Unterschiede in den Bandmustern der A- und B-Proben von Rinderfrüchten. 1) Hämolysat eines erwachsenen Rindes, 2) Embryo 2.7 cm-A, 3) Embryo 2.7 cm-B, 4) Embryo 3.3 cm-A, 5) Embryo 3.3 cm-B, 6) Embryo 5.3 cm-A, 7) Embryo 5.3 cm-B, 8) Embryo 8.3 cm-A, 9) Embryo 8.3 cm-B.

Ein ungleiches Bild gegenüber den A-Hämolysaten ergaben auch die B-Präparationen einer 3.9/4.2 und einer 7.8 cm langen Schweinefrucht.
Bei den B-Proben eines 2.8 cm großen Embryos und einer 1.4 cm langen Resorptionsfrucht zeichnete sich neben der Hb F-Komponente ebenfalls eine weitere Sonderfraktion ab (hier fehlt der Vergleich mit den A-Proben).

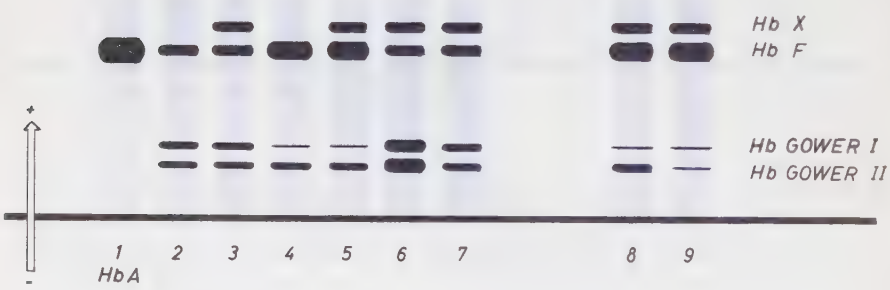


Abb. 7. Elektrophoretische Auftrennungsmuster der A- und B-Hämolysate von Schweinefrüchten. 1) Hämolysat eines erwachsenen Schweines, 2) Embryo 3.9/4.2 cm-A, 3) Embryo 3.9/4.2 cm-B, 4) Embryo 7.8 cm-A, 5) Embryo 7.8 cm-B, 6) Resorptionsfrucht 1.4 cm-B, 7) Embryo 2.8 cm-B;
Embryo 6.8 cm-A, 9) Embryo 8.5/9.0 cm-A.

Eine x-Fraktion mit größerer elektrophoretischer Motilität als Hb F konnte schließlich auch in den Bandmustern der A-Hämolysate von 6.8 und 8.5/9.0 cm langen Schweinefoeten gefunden werden.

D DISKUSSION

Das Verhalten der Hämoglobinentwicklung bei den Embryonen verschiedener Tierspezies zu erhellen, ist deshalb interessant, weil die gefundenen Gegebenheiten in Parallele gesetzt werden können mit denen des Menschen. Die Durchführung daraufgerichteter Untersuchungen mit menschlichen Embryonen stößt zumeist auf Schwierigkeiten. Einmal ist die Beschaffung der Objekte nicht leicht, zum anderen sind diese – es handelt sich letztlich um abortierte Schwangerschaftsprodukte – des öfteren beschädigt. Eine Verfälschung der Ergebnisse durch Zumischung mütterlichen Blutes zum Blute der Embryonen kann deshalb nicht immer sicher ausgeschlossen werden. Viel leichter zugänglich ist tierisches Material. Die Tierembryonen können aus den Trageorganen der geschlachteten Muttertiere unter Bedingungen präpariert werden, die eine solche Blutvermischung vermeiden helfen.

Die hier gewählten Untersuchungsmethoden der Stärkegel- und der CAG-Elektrophorese erwiesen sich für die qualitative und quantitative Analyse der Hämoglobingemische als sehr zweckmäßige und elegante Verfahren. Die Elektrophorese im Stärkegel ist zudem auch von anderen Untersuchern zur Identifizierung des embryonalen Hämoglobins herangezogen worden, ein Vergleich der hier gewonnenen Ergebnisse mit den Befunden dieser Autoren kann deshalb leichter gezogen werden.

In Übereinstimmung mit den Ergebnissen von KLEIHAUER et al. (22,23) und SCHMID und THEIN (36) kann bei Rinderembryonen unter 1.0 cm Kopfsteißlänge nur der praefetale Blutfarbstoff gefunden werden. Bei den kleinsten hier untersuchten Rinderembryonen liegt die Konzentration des Hb GOWER II zwar höher als die des Hb GOWER I, man darf aber annehmen, daß bei noch jüngeren Schwangerschaftsanlagen das Hb GOWER I überwiegt. Das embryonale Hämoglobin ist regelmäßig bei Früchten bis zu einer Länge von 7 bis 8 cm nachzuweisen. Dieses Resultat korrespondiert wiederum mit den Angaben von KLEIHAUER et al. (22,23), steht aber außerhalb der Ergebnisse von SCHMID und THEIN (36), die den frühfetalen Farbstoff nur bei Embryonen bis 2.0 cm Kopf-

steißlänge finden konnten. Der Anteil des embryonalen Pigments am Gesamthämoglobin nimmt mit zunehmender Entwicklungsreife stetig zugunsten des Hb F ab, Hb GOWER II findet sich in verhältnismäßig größeren Portionen als Hb GOWER I.

Sehr junge Schweineembryonen verfügen ebenfalls nur über embryonales Hämoglobin, dabei besteht der Großteil aus Hb GOWER I. Im weiteren Reifegang findet sich dann das Hb GOWER II regelmäßig in relativ größerer Menge als Hb GOWER I. Das frühfetale Hämoglobin wird schrittweise durch das Hb F ersetzt. Die Hb F-Bildung setzt bei 1.3 cm großen Embryonen ein, der Zeitpunkt des völligen Ersatzes ist anzusetzen bei 8 bis 9 cm langen Früchten.

Aus den gefundenen Ergebnissen läßt sich ablesen, daß bei Rinder- und Schweineembryonen zunächst ϵ-Ketten auftreten; die Hämoglobinbildung setzt also mit der Produktion des Hb GOWER I ein. Mit der Synthese der α-Ketten beginnt dann wenig später die Bildung des Hb GOWER II, während die Produktion des Hb GOWER I zurückgedrängt wird. Bei ca. 1 cm großen Foeten läuft die Bildung der γ-Ketten, mithin des Hb F an.

Beim Schafe zeigen sich etwas abgewandelte Verhältnisse. Man vermißt die allmähliche Ablösung des Hb GOWER I durch den anderen embryonalen Farbstofftyp, die Bildung des Hb GOWER I überdauert. Das Auftreten des Hb F erfolgt zu einen früheren Termin, die zeitliche Dauer der embryonalen Hämoglobinbildung ist verkürzt. Der Wechsel im Farbstoffbestand vollzieht sich zu einem eindeutig bälderen Zeitpunkt. Auch bei den Schafsembryonen treten zuerst ϵ-Ketten, dann α-Ketten auf. Mit der Synthese der γ-Ketten scheint die Konjugation zweier α- und zweier ϵ-Ketten gegenüber der Koppelung zweier α- und zweier γ-Ketten zurückgestellt.

Das Verhalten der frühen Hämoglobinentwicklung ist bei Schweinen, Rindern und – abgesehen von zeitlichen Verschiebungen – auch bei Schafen im Prinzip gleich und in Einklang zu bringen mit den Verhältnissen des Menschen. Bei Mensch (15) und Schaf praedominiert das Hb GOWER I, bei Schwein und Rind tritt hingegen ab einem bestimmten Reifeschritt das Hb GOWER II in höherer Konzentration auf.

Das Auftreten des embryonalen Hämoglobins in der Ontogenese des Menschen und anderer hochdifferenzierter Organismen kann einmal zu dem Schlusse leiten, daß dieser Farbstoff gebildet wird, weil seine funktionellen Eigenschaften den Bedingungen der frühen Embryonalperiode besonders angepaßt sind (15). Es muß indes erwogen werden, ob nicht das Hb GOWER I (ϵ_4) eine ebenso extrem hohe O_2-Affinität besitzt wie die übrigen bekannten Tetramere Hb Bart's und Hb H (5).

Man kann das primitive Pigment aber auch als ein phylogenetisches Residuum abtun, wenn man in der Ontogenese die kurze Wiederholung der Stammesentwicklung sieht (11).

Die Differenzen in den Bandmustern der A- und B-Hämolysate müssen als die Folge der unterschiedlichen Präparation gewertet werden. Die schneller als Hb F wandernde x-Fraktion im Pherogramm der Hb-Lösungen, die aus den Lebergeweben präpariert wurden, kann als ein Umwandlungsprodukt des fetalen Blutfarbstoffes durch Leberenzyme angesehen werden. Durch Fermentangriff am Molekül bzw. an den Seitenketten der Reste wäre die Bildung eines Kunstproduktes mit anderem Gewicht oder anderen Ladungsverhältnissen immerhin denkbar. Dies entspräche im Grunde Verhältnissen beim Menschen, wie sie von MARTI et al. (31) in Form des Hb Koelliker beschrieben worden sind. Es können aber auch lösliche Leberproteine mit dieser Fraktion nachgewiesen worden sein.

Für das Auftreten der x-Fraktion im Muster der durch Herzpunktion gewonnenen Hämolysate muß dagegen eine andere Ursache angeschuldigt werden. Es könnte sich bei dieser Sonderfraktion zwar ebenfalls um einen Artefakt im Sinne eines Alterungsproduktes handeln, doch kann eine solche Deutung nicht zufriedenstellen, da das Hämoglobin der übrigen A-Hämolysate unter den gleichen Bedingungen sich stabil gezeigt hat. Eher muß die Möglichkeit einer abnormen Variante des Hb F diskutiert werden. SCHMID und THEIN (36) konnten bei zwei Rinderfrüchten mit Längen von 5.5 und 13.5 cm ebenfalls eine nicht mit dem Hb F identische Hb-Fraktion nachweisen, die sie als eine Sonderform des fetalen Hämoglobins deuteten (Hb F-München). Anomale fetale Hämoglobine sind auch beim Menschen in Vielzahl beschrieben, wie z.B. die γ-Anomalien Hb Alexandra (10), Hb F Texas (37), Hb F Roma (39) und die α-Anomalien Hb D (33), Hb G α Philadelphia (41), Hb G α Baltimore (34) u. a.

E ZUSAMMENFASSUNG

Die Existenz des frühfetalen Hämoglobins konnte bei den Embryonen aller drei untersuchten Tierspezies aufgedeckt werden. Es gelang mit Hilfe der Stärkegel- und der CAG-Elektrophorese, jeweils die Zeitdauer der Praesenz des embryonalen Farbstoffes zu bestimmen und seine Mengenverteilung im Verlaufe dieses Zeitraumes zu verfolgen. Bei Schweinen und bei Rindern läuft die frühe praenatale Hämoglobinbildung in weitgehend gleicher Weise ab. Embryonen unter 1.0 cm Kopfsteißlänge bilden nur frühfetales Hämoglobin. Hb GOWER I tritt zunächst in höherer Konzentration auf als das Hb GOWER II. Im weiteren Entwicklungsgang wird der embryonale Farbstoff durch das fetale Pigment in Schritten abgelöst, das Hb GOWER II erscheint nun in relativ größeren Mengen als das Hb GOWER I. Bei 8.0 cm langen Foeten ist die Produktion des embryonalen Blutpigmentes abgeschlossen. Beim Schafe ist das Verhalten der Hämoglobinentwicklung in ihren ersten Phasen modifiziert. Die Produktion des fetalen Hamoglobins setzt früher ein als bei Schweine- und Rinderembryonen. Der völlige Ersatz des embryonalen Farbstoffes durch das fetale Pigment erfolgt schon bei 3 bis 4 cm langen Embryonen. Hb GOWER II wird nur in verhältnismäßig geringen Mengen gebildet.

Bei der elektrophoretischen Auftrennung der Hämolysate, die aus Leberhomogenaten gewonnen wurden, zeigte sich zum Teil eine nicht mit den bislang bekannten Hb-Typen identische x-Fraktion. Diese Hb-Komponente stellt wohl ein Umwandlungsprodukt des Hb F dar. Eine Sonderfraktion konnte bei zwei Schweinefrüchten von 6.8 und 8.5/9.5 cm Länge auch in den Bandmustern der durch Herzpunktion gewonnenen Hämolysate gefunden werden, die als abnorme Variante des fetalen Hämoglobins gedeutet wird.

F LITERATUR

1 ALLEN, D.W., W.A. SCHROEDER and J. BALOG: Observations on the Chromatographic Heterogeneity of Normal Adult and Fetal Human Hemoglobin: A Study of the Effects of Crystallization and Chromatography on the Heterogeneity and Isoleucine Content.
J. Am. Chem. Soc. **80**, 1628 (1958)

2 ALLISON, A.C.: Notation for Hemoglobin Types and Genes Controlling Their Synthesis.
Science **122**, 640 (1955)

3 BARROWMAN, J. and M. CRAIG: Haemoglobins of Foetal C57BL/6 Mice.
Nature **190**, 818 (1961)

4 BARROWMAN, J. and K.B. ROBBERTS: Haemoglobins of Foetal CBA Mice.
Nature **189**, 409 (1961)

5 BENESCH, R. and R.E. BENESCH: Properties of haemoglobin H and their significance in relation to function of haemoglobin.
Nature **202**, 773 (1964)

6 BETKE, K.: Das Hämoglobin und die Hämoglobinanomalien. In Handbuch der Inneren Medizin, 2. Bd., I. Teil, 636.
Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1968

7 BUTLER, E.A., F.V. FLYNN and E.R. HUEHNS: Haemoglobin of foetal blood.
Clin. Chim. Acta **5**, 571 (1960)

8 D'AMELIO, V. and A.M. SALVO: Further studies on the embryonic chick hemoglobin. An electrophoretic and immunoelectrophoretic analysis.
Acta Embryol. Morphol. Exper. **4**, 250 (1961)

9 DRESCHER, H. und W. KÜNZER: Der Blutfarbstoff des menschlichen Feten.
Klin. Wschr. **32**, 92 (1954)

10 FESSAS, P., N. MASTROKALOS, G. FOSTIROPOULOS, F. VELLA, J.A.M. AGER and H.LEHMANN: New variant of human foetal haemoglobin.
Nature **183**, 30 (1959)

11 HAECKEL, E.: Anthropogenie oder Entwicklungsgeschichte des Menschen.
Leipzig 1903

12 HALBRECHT, I., H. BRZOZA and M. LAHAW: Haemoglobins and the serum protein fractions in early embryonic life.
Am. J. Clin. Path. **29**, 340 (1958)

13 HALBRECHT, I. and C. KLIBANSKI: Identification of a new normal embryonic haemoglobin.
Nature **178**, 794 (1956)

14 HALBRECHT, I., C. KLIBANSKI and F. BAR ILAN: Coexistence of the embryonic (third normal) haemoglobin fraction with erythroblastosis in the blood of two fullterm newborn babies with multiple malformations.
Nature **183**, 327 (1959)

15 HECHT, F., A.G. MOTULSKY, R.J. LEMIRE and T.E. SHEPARD: Predominance of Hemoglobin GOWER I in Early Embryonic Development.
Science **152**, 91 (1966)

16 HUEHNS, E.R., N. DANCE, G.H. BEAVEN, J.V. KEIL, F. HECHT and A.G. MOTULSKY: Human embryonic haemoglobins.
Nature **201**, 1095 (1964)

17 HUEHNS, E.R., F.V. FLYNN, E.A. BUTLER and G.H. BEAVEN: Two New Haemoglobin Variants in a Very Young Human Embryo.
Nature **189**, 496 (1961)

18 HUEHNS, E.R., F. HECHT, J.V. KEIL and A.G. MOTULSKY: Developmental hemoglobin anomalies in a chromosomal triplication: D_1 trisomy syndrome.
Proc. Nat. Acad. Sc. **51**, 89 (1964)

19 HUEHNS, E.R. and E.M. SHOOTER: Human haemoglobins.
J. med. Genet. **2**, 48 (1965)

20 KLEIHAUER, E.: Fetales Hämoglobin und fetale Erythrocyten.
Stuttgart: Enke 1966

21 KLEIHAUER, E., K. BETKE und P.A. KÖNIG: Embryonale Hämoglobine.
Klin. Wschr. **43**, 435 (1965)

22 KLEIHAUER, E. und E. BRAUCHLE: Untersuchungen über embryonale Hämoglobine bei Rindern.

Proc. 10th Congr. europ. Soc. Haemat. Strasbourg 1965.

23 KLEIHAUER, E., E. BRAUCHLE and G. BRANDT: Ontogeny of Cattle Haemoglobin.
Nature **212**, 1272 (1966)

24 KLEIHAUER, E., D.E. TANG und K. BETKE: Die intrazelluläre Verteilung von embryonalem Hämoglobin in roten Blutzellen menschlicher Embryonen.
Acta haemat. **38**, 264 (1967)

25 KNOLL, W.: Der Gang der Erythropoese beim menschlichen Embryo.
Acta haemat. **2**, 369 (1949)

26 KNOLL, W.: Die embryonale Blutbildung beim Menschen.
St. Gallen: Zollikofer u. Co 1950

27 KÖRBER, E.: Über Differenzen des Blutfarbstoffes.
Zbl. med. Wiss. **5**, 177 (1967)

28 KÜNZER, W.: Human Embryo Haemoglobins.
Nature **179**, 477 (1957)

29 KURATA, Y. and W. ARAKAWA: Embryonic haemoglobin of Bufo vulgaris.
Blut **9**, 42 (1963)

30 MANWELL, C., C.M.A. BAKER, J.D. ROSLANSKY and M. FOGHT: Molecular genetics of avian proteins, II Control genes and structural genes for embryonic and adult hemoglobins.
Proc. Nat. Acad. Sc. **49**, 496 (1963)

31 MARTI, H.R., D. BEALE and H. LEHMANN: Haemoglobin Koelliker: A new acquired haemoglobin appearing after severe haemolysis: α_2 minus 141 Arg β_2.
Acta haemat. **37**, 174 (1965)

32 MATSUDA, G., W.A. SCHROEDER, R.T. JONES and N. WELIKY: Is There an „Embryonic" or „Primitive" Human Hemoglobin?
Blood **16**, 984 (1960)

33 MINNICH, V., J.K. CORDONNIER, W.J. WILLIAMS and C.V. MOORE: Alpha, beta and gamma hemoglobin polypeptide chaines during the neonatal period with description of a fetal form of hemoglobin D α St. Louis.
Blood **19**, 137 (1962)

34 RIEDER, R.F. and M.A. NAUGHTON: Hemoglobin G (Baltimore): A new abnormal hemoglobin, and an additional individual with four hemoglobins.
Bull. Johns Hpk. Hosp. **116**, 17 (1965)

35 ROSENBAUM, D.L.:Hemoglobin electrophoresis on cellulose acetate.
Am. J. Med. Sc. **252**, 726 (1963)

36 SCHMID, D.O. und P. THEIN: Über embryonale und foetale Haemoglobine beim Rind.
Zbl. Vet. Med. **14**, 32 (1967)

37 SCHNEIDER, R.G. and R.T. JONES: Hemoglobin F Texas: Gamma-chain variant.
Science **148**, 240 (1965)

38 SCHROEDER, W.A. and R.T. JONES: Some aspects of the chemistry and function of human and animal hemoglobins.
Fortschr. Chem. organ. Naturstoffe **23**, 113 (1965)

39 SILVESTRONI, E. and I. BIANCO: A new variant of human fetal hemoglobin: Hb F Roma.
Blood **22**, 545 (1963)

40 SMITHIES, O.: Zone electrophoresis in starch gels: group variations in the serum proteins of normal human adults.
Biochem. J. **61**, 629 (1955)

41 WEATHERALL, D.J. and G. BAGLIONI: A fetal hemoglobin variant of unusual genetic interest.
Blood **20**, 675 (1962)

42 WILT, F.H.: The ontogeny of chick embryo haemoglobin.
Proc. Nat. Acad. Sc. **48**, 1582 (1962)

43 ZILLIACUS, H.: Human Embryo Haemoglobin.
Nature **188**, 1202 (1960)

Meinen besonderen Dank schulde ich Herrn Priv.-Doz.Dr.med. E. Kleihauer für die Überlassung des Themas und für seine unermüdliche und stets tatkräftige Unterstützung, die das Zustandekommen dieser Arbeit erst ermöglicht hat.

Herrn Prof.Dr.med. K. Betke danke ich von Herzen dafür, daß er mir die Möglichkeit bot, die Untersuchungen in seinem Institut durchzuführen.

Nicht zuletzt sage ich auch Herrn Oberveterinärrat Dr.med.vet. H. Faulhammer (Schlachthof Reutlingen) und Herrn Oberveterinärrat Dr.med.vet. M. Glaub (Schlachthof Stuttgart) für die Bereitstellung des Embryonenmaterials meinen herzlichen Dank.

LEBENSLAUF

Am 3. Oktober 1938 wurde ich, Hans-Dieter Spieth, als Sohn des Prokuristen Eugen Spieth und dessen Ehefrau Eleonore, geb. Clauß in Esslingen a.N. geboren.

Nach 4 Jahren Grundschule in Esslingen a.N. bestand ich die Aufnahmeprüfung in das Esslinger Georgii-Gymnasium, wo ich am 24. Februar 1959 die Reifeprüfung ablegte.

Vom 6. April 1959 bis zum 30. März 1960 leistete ich bei der Bundeswehr den Wehrdienst ab.

Am 1. Mai 1960 begann ich das Studium der Medizin an der Universität Tübingen. Die naturwissenschaftliche Vorprüfung bestand ich am 30. März 1961, die ärztliche Vorprüfung am 12.Oktober 1963. Im Februar 1968 beendete ich in Tübingen mein Studium mit dem medizinischen Staatsexamen.